

Contenido de carbohidratos en hojas y raíces de plantas de naranja 'Valencia' y mandarina 'Dancy' durante un ciclo anual de crecimiento

Carbohydrate contents in leaves and roots of 'Valencia' orange and 'Dancy' tangerine during an cycle of growth

L.E. Laskowski

Departamento de Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía, UCLA.
Apartado Postal 400, Barquisimeto, Venezuela.

Resumen

La movilización de los carbohidratos durante el ciclo anual de crecimiento determina la productividad en los cítricos. Con el propósito de establecer el contenido de carbohidratos solubles en hojas y raíces de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck 'Valencia' y *Citrus reticulata* (Blanco) 'Dancy' bajo condiciones tropicales, se realizó un estudio en plantas de 8 años en Tarabana, Lara, Venezuela. Durante un año, a partir de la floración y de forma bimensual, se tomaron hojas adultas de la parte media de la copa y las raíces fueron secundarias, del tipo finas. Los carbohidratos solubles totales y reductores se extrajeron con etanol y se determinaron por colorimetría. Los carbohidratos solubles en hojas y raíces, expresados como porcentaje de materia seca (%MS), presentaron variaciones vinculadas con el crecimiento reproductivo. En las hojas se observaron valores bajos al inicio de la floración, máximos durante el cuajado y a continuación, relacionado con el crecimiento del fruto, disminución hasta valores mínimos. En las raíces está variación mostró un patrón opuesto, observándose un máximo al inicio de la floración y a continuación, una drástica disminución durante el desarrollo del fruto. En conclusión, en ambas especies el contenido de carbohidratos solubles presente en hojas y raíces presentó una variación anual vinculada al crecimiento reproductivo, bajo las condiciones climáticas del huerto.

Palabras clave: azúcares solubles, movilización de carbohidratos, carbohidratos de reserva, *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*.

Abstract

In citrus the mobilization of carbohydrates during the annual cycle of growth is a determinant of productivity. In order to establish the pattern of annual variation in soluble carbohydrate content in leaves and roots of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck 'Valencia' and *Citrus reticulata* (Blanco) 'Dancy' under tropical conditions, a study was carried out in 8-year-old plants, in Tarabana, Lara, Venezuela. During one year, after blossom and bimonthly, mature leaves from the middle of the crown and fines type roots were taken. The total and reducing soluble carbohydrates were extracted with ethanol, determined by colorimetry and expressed as a percentage of dry matter (% MS). Soluble carbohydrates in leaves showed low values at the beginning of flowering, peaks during fruit set and then, related to fruit growth, decreased to a minimum. In roots this variation showed the opposite pattern, increasing at the beginning of flowering and declining sharply during the setting of the fruit. In conclusion, soluble carbohydrates in both species showed an annual variation in leaves and roots similar to that observed in temperate zones, related to reproductive growth.

Key words: soluble sugar, carbohydrates mobilization. Reserve carbohydrates, *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*.

Introducción

En los cítricos diversos estudios apoyan la existencia de una correlación positiva entre floración y cuajado inicial del fruto y el contenido de carbohidratos no estructurales presentes en las hojas (Goldschmidt *et al.*, 1985; Sanz *et al.*, 1987; García-Luis *et al.*, 1995), probablemente debido a la energía requerida para la diferenciación de las yemas y la actividad celular del ovario (Spiegel-Roy y Goldschmidt, 1996; Rivas *et al.*, 2006). Sin embargo, después de exhaustivos estudios no se termina por esclarecer completamente este tema. Es el caso de la relación aparente entre ausencia de floración o su menor intensidad y la presencia de frutos en desarrollo, sobre la cual no se ha determinado satisfactoriamente si es la fuerte demanda de carbohidratos por los frutos

Introduction

In citric several researches support the existence of a positive correlation among blossom, the initial fruit set and the content of non structural carbohydrates present in the leaves (Goldschmidt *et al.*, 1985; Sanz *et al.*, 1987; García-Luis *et al.*, 1995), probably due to the energy required for differentiating the buds and the cellular activity of the ovary (Spiegel-Roy and Goldschmidt, 1996; Rivas *et al.*, 2006).

However, after exhaustive researches this topic is not completely clear. Such is the case of the apparent relation between the absence of blossom or its lower intensity, and the presence of fruits on the development phase, regarding this information, it is not satisfactorily cleared if the strong demand of carbohydrates by the fruits

el responsable del efecto (Verreynne y Lovatt, 2009; Martínez-Fuentes *et al.*, 2010). Al respecto, Nebauer *et al.* (2011) sostienen que en ausencia de frutos se provoca una modulación rápida de la expresión de genes implicados en la repartición de los asimilados en las hojas.

Se considera el crecimiento inicial del fruto como etapa crítica, con alto requerimiento de carbohidratos solubles que pueden provenir tanto de la movilización de las reservas acumuladas en la planta, como de la síntesis (Guardiola y García-Luis, 2000; Laskowski, 2010). Sin embargo, recientemente Monerri *et al.* (2011) señalan que las reservas de hidratos de carbono juegan un papel muy pequeño o ninguno sobre el cuajado y desarrollo inicial del fruto, dependiente básicamente de la fotosíntesis diaria.

De acuerdo con Goldschmidt y Koch (1996), en las zonas subtropicales las plantas de cítricos durante el invierno acumulan carbohidratos en las raíces y las hojas que se movilizan y utilizan durante la floración en primavera. La información acumulada en zonas subtropicales sobre el contenido de carbohidratos no estructurales en las hojas proponen una movilización de azúcares solubles y no solubles durante el crecimiento reproductivo siguiendo modelos que parecen depender de la especie, observándose desde una disminución gradual a partir de antesis hasta el fin de la caída fisiológica del fruto que ocurre en junio (Sanz *et al.*, 1987), en contraposición a un consumo rápido durante la post-antesis que conduce a un mínimo en las reservas en un plazo de cuatro a seis semanas (Ruiz *et al.*, 2001). En *C. sinensis* var.

is the responsible of the effect (Verreynne and Lovatt, 2009; Martínez-Fuentes *et al.*, 2010). On this matter, Nebauer *et al.* (2011) mention that in absence of fruits is provoked a fast modulation of the genes expression implied in the distribution of the assimilates in the leaves. The initial growing of the fruit is considered as a critical phase, with high requirements of soluble carbohydrates that might derive from both the mobilization of the reservoirs accumulated in the plant, as in the synthesis (Guardiola and García-Luis, 2000; Laskowski, 2010). However, Monerri *et al.* (2011) have recently mentioned that the reservoirs of carbon hydrates have a small or none role on the fruit set and the initial development of the fruit, which basically depend on the daily photosynthesis.

According to Goldschmidt and Koch (1996), in sub-tropical regions the citric plants accumulate carbohydrates in the roots and leaves during winter, which mobilize and are used during flowering in spring. The information obtained in sub-tropical regions about the non structural carbohydrate content in leaves, propose a mobilization of soluble and non soluble sugar during the reproductive growth, following models that seem to depend on the specie, observing a gradual reduction after the blossom and the end of the physiological fall of the fruits, which occurs in June (Sanz *et al.*, 1987), in contrast to a fast consumption during the post-blossom which conducts to a minimum in the reservoirs from four to six weeks (Ruiz *et al.*, 2001).

Salustiana Almeida (2003) observó una rápida disminución de los carbohidratos no estructurales presentes en raíces y hojas durante la floración seguido por un aumento al inicio de la abscisión de los frutos y franca disminución al final del periodo de crecimiento exponencial del fruto.

En condiciones tropicales, donde los cítricos muestran un crecimiento con varios flujos de brotación vegetativa y reproductiva al año (Leal, 2009), es poco conocido como sucede la movilización de los carbohidratos entre los diferentes órganos de la planta, a pesar de constituir este un aspecto relevante en el estudio de los factores involucrados en la productividad. En este sentido, el presente trabajo tiene como objetivo determinar el contenido de carbohidratos solubles en hojas y raíces de dos especies de *Citrus* y su pauta de variación anual, en relación con el crecimiento reproductivo, bajo las condiciones climáticas característica de un huerto ubicado en el estado Lara, Venezuela.

Material es y métodos

Ubicación del estudio y Material Vegetal. El trabajo de campo se realizó entre los años 2007 y 2008, en un huerto de frutales ubicado en la Estación Experimental del Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA) en Tarabana, municipio Palavecino del estado Lara (10° 01' N y 69° 17' W). La zona de estudio se encuentra a 510 msnm y se caracteriza por ser un bosque muy seco tropical con precipitación menor de 900 mm/año. Para la recolección de mues-

In *C. sinensis* var. Salustiana, Almeida (2003) observed a fast reduction of the non structural carbohydrates present in the roots and leaves during blossom, followed by an increment at the beginning of abscission of the fruits and a reduction at the end of the exponential growing period of the fruit.

In tropical conditions, where citric show a growing with several flows of vegetative and reproductive blossom per year (Leal, 2009), is not well known how the mobilization of carbohydrates between the different organs of the plant happens, even though it constitutes a relevant aspect in the research of factors involved in the productivity. On this matter, the aim of this research is to determine the content of soluble carbohydrates in leaves and roots of two *Citrus* species and its annual variation pattern in relation to the reproductive growth, under the climatic conditions of an orchard located in Lara state, Venezuela.

Materials and methods

Location of the research and vegetal material. The field work was carried out from 2007 to 2008, in a fruit orchard located at the Experimental Station of the Agronomy Faculty, University “Centroccidental Lisandro Alvarado” (UCLA) in Tarabana, Palavecino county, Lara state (10° 01' N and 69° 17' W). The field area is on 510 masl and is characterized by being a very dry tropical forest with precipitations lower than 900 mm/year. For the sample collection five sweet orange plants were selected *Citrus*

tras se seleccionaron cinco plantas de naranja dulce *Citrus sinensis* (L.) Osbeck 'Valencia' y siete de mandarina *Citrus reticulata* Blanco 'Dancy', de aproximadamente 8 años de edad, injertadas sobre *Citrus volkameriano* Pasq., con características similares en vigor, altura y estado fenológico, en aparente buen estado fitosanitario. El huerto no poseía riego, con lo cual la precipitación anual fue determinante en el mantenimiento de las plantas.

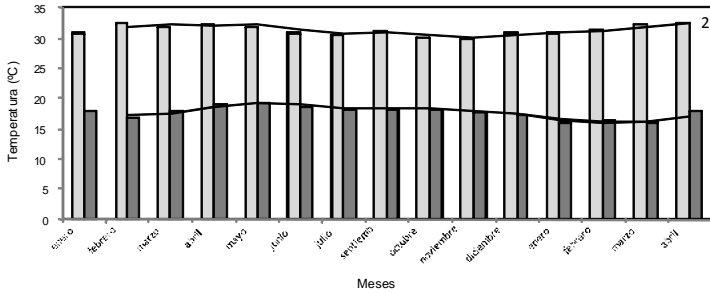
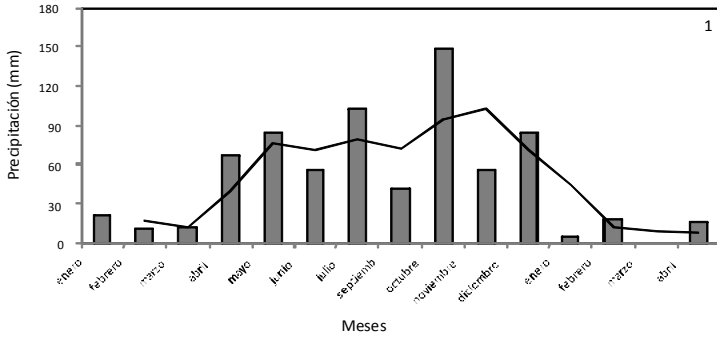
Condiciones climáticas. El periodo de recolección de muestras se caracterizó por una escasa precipitación durante los meses de enero, febrero y marzo del 2007 (entre 11 y 21 mm/mes), a continuación se inició la temporada lluviosa, entre abril y diciembre, con valores máximos de precipitación en julio (102 mm) y octubre (148 mm) y de enero a abril del 2008 se registró una nueva temporada seca, con precipitaciones entre 0 y 18 mm/mes (figura 1). En relación a la temperatura ambiental máxima, esta varió entre los 30 y 33°C durante el estudio, ligeramente superior (32-33°C) de febrero a mayo del año 2007 y de marzo a abril del 2008. Las temperaturas mínimas fluctuaron entre los 16 y 19°C, ligeramente superiores (18-19°C) en los meses de marzo a octubre del 2007 (figura 2).

Diseño experimental. Durante febrero del 2007 todas las plantas seleccionadas se encontraban en crecimiento vegetativo y se homogenizó la población retirando algunos frutos maduros, rezagados de la cosecha anterior, considerando que su presencia puede limitar la nueva floración (Goldschmidt y Koch, 1996; Laskowski, 2010). En ambas especies

sinensis (L.) Osbeck 'Valencia' and seven tangerines *Citrus reticulata* Blanco 'Dancy', of approximately 8 years old, grafted on *Citrus volkameriano* Pasq., with similar characteristics in vigor, height and phenolic phase, and apparently with good phytosanitary conditions. The orchard did not have irrigation, for that reason the annual precipitation was determinant on the maintenance of the plants.

Weather conditions. The collection period of the simple was characterized by a limited precipitation during January, February and March 2007 (from 11 to 21 mm/months), after that time the rainy season started from April to December, with maximum values of precipitations in July (102 mm) and October (148 mm), and from January to April 2008 a new dry season was registered, with precipitations from 0 to 18 mm/month (figure 1). In relation to the maximum environmental temperature, this varied from 30 to 33°C during the research, which is slightly superior (32-33°C) from February to 20, 2007, and from March to April 2008. The minimum temperatures fluctuated from 16 to 19°C, slightly superior (18-19°C) from March to October, 2007 (figure 2).

Experimental design. During February 2007, all the selected plants were under vegetative growth, and the population homogenized removing mature and left behind fruits from the previous crop, considering that their presence might limit the new flowering (Goldschmidt and Koch, 1996; Laskowski, 2010). In both species, the research started with the blossom of



Figuras 1 y 2. Precipitación y Temperatura promedio mensual registradas durante los años 2007 y 2008 en el Huerto de Frutales del Decanato de Agronomía, UCLA, Estado Lara. (Fuente: Estación Climática del Decanato de Agronomía, UCLA). Nota: no hay registros para el mes de agosto.

Figures 1 and 2. Precipitation and monthly average temperature registered during 2007 and 2008, in the Fruit's Orchard of the Agronomy Faculty, UCLA, Lara state (Source: weather station of the Agronomy Faculty, UCLA). Note: there are not registers for August.

el estudio comenzó con la floración de abril del 2007, al inicio del periodo lluvioso, y continuó durante el desarrollo de los frutos de esa floración, hasta febrero del 2008 en las mandarinas y en abril del 2008 en las naranjas, un mes luego de la cosecha. Durante ese ciclo reproductivo se determinó en cada una de las plantas el contenido de carbohidratos en hojas y raíces. Se rea-

April 2007, at the beginning of the rainy season, and continued during the development of the fruits of that blossom, until February 2008 in tangerines, and in April 2008 in oranges, a month after the harvest. During this reproductive cycle was determined on each of the plants the content of carbohydrates in the leaves and roots. Collections of vegetal mate-

lizaron colectas de material vegetal cada dos meses. Las hojas muestreadas fueron siempre completamente desarrrolladas, de color verde oscuro brillante, 8 a 10 hojas en el caso de las plantas de naranja y de 10 a 14 en las mandarinas. Estas hojas se tomaron solo de brotes vegetativos leñosos, del anterior flujo de crecimiento, ubicadas en la parte media de la copa. Para las raíces, de cada planta se extrajeron 1 a 2 g de raíces secundarias finas (1 a 5 mm de diámetro) presentes en el suelo, entre 5 y 8 cm de profundidad, entre la periferia de la sombra de la copa y el tallo, siguiendo las recomendaciones de Mataa y Tominaga (1998) y Almeida (2003). El material vegetal muestreado se transportó al Laboratorio de Química Orgánica del Decanato de Agronomía-UCLA, se lavó con agua destilada y después de secar en estufa a 70°C durante 72 horas, se trituró en mortero y se pasó por un tamiz de 0,2 mm. Las muestras de cada planta se guardaron en pequeñas bolsas herméticamente cerradas en congelador a -10°C.

Determinación de carbohidratos. El procesamiento bioquímico incluyó todas las muestras mensuales de hojas y raíces procedentes de las dos especies, a las cuales se les determinó el contenido de carbohidratos solubles totales y reductores. Los carbohidratos se extrajeron dos veces a partir de 100 mg de la muestra mezclada con 20 mL de etanol al 80% durante 10 min en un baño de agua a 100°C, agitándolos ocasionalmente hasta la evaporación del etanol (McCready *et al.*, 1950). El resultante se diluyó hasta 50 mL con agua destilada a fin de proceder a la

rial were performed every two months. The sampled leaves were always completely developed, with brilliant dark green color, 8 to 10 leaves in the orange plants and from 10 to 14 in tangerines. These leaves were only taken from woody vegetative buds from the previous growing flow, located on the medium side of the canopy. For the roots, 1 to 2 g of fine secondary roots present in the soil were extracted from each plant (1 to 5 mm of diameter), from 5 to 8 cm of depth between the periphery of the canopy's shadow and the stem, following the recommendation of Mataa and Tominaga (1998) and Almeida (2003). The vegetal sampled material was taken to the Organic Chemical Laboratory of the Agronomy Faculty-UCLA, was washed with distilled water, let on the stove at 70°C for 72 hours, mashed in a mortar and sift in a 0.2 mm sieve. The samples of each plant were stored in small bags hermetically close, in the freezer at -10°C.

Determination of carbohydrates. The biochemical processing included all the monthly samples of leaves and roots coming from both species, out of which were determined the content of total soluble carbohydrates and reducers. The carbohydrates were extracted twice after 100 mg of the sample mixed with 20 mL of ethanol at 80%, for 10 min, in a water bath at 100°C, moving the mix occasionally until the evaporation of ethanol (McCready *et al.*, 1950). The result was diluted until 50 mL with distilled water, with the aim of proceeding to the quantitative determination by triplicate (three

determinación cuantitativa, trabajando cada muestra por triplicado (tres alícuotas diferentes de la dilución). Los carbohidratos solubles totales se determinaron empleando el método de antrona/ácido sulfúrico (McCready *et al.*, 1950) y los carbohidratos reductores a través del método colorimétrico de Somogy (1952) y Nelson (1944). En ambos casos el contenido de carbohidratos de las alícuotas se estimó a partir de una curva patrón conteniendo entre 15 y 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de glucosa, procesada simultáneamente. Los resultados se expresan como porcentaje de carbohidratos solubles totales y reductores sobre materia seca.

Análisis estadístico. Los datos experimentales fueron procesados mediante la utilización de los programas: Microsoft Excel 2003 y Statistix V 8.0. Previa comprobación de sus supuestos se realizó un análisis de varianza bajo un diseño aleatorio simple, tomando como fuente de variación las fechas de muestreo a lo largo de un año, tanto en hojas como en raíces de las dos especies estudiadas. Para determinar diferencias entre las medias se empleó el test de Tukey. El error estándar se calculó como $SE = SD/\sqrt{n}$, donde SD es la desviación estándar de la población (estimada) y n el tamaño de las muestras.

Resultados y discusión

Variación en el contenido de carbohidratos solubles en hojas de *Citrus sinensis* 'Valencia' y *Citrus reticulata* 'Dancy'

De acuerdo con los resultados (figura 3), en abril del 2007, coincidiendo con la floración y el cuajado inicial

different aliquots of the dilution). The total soluble carbohydrates were determined employing the anthrone/sulphuric acid method (McCready *et al.*, 1950) and the reducer carbohydrates through the colorimetric method of Somogy (1952) and Nelson (1944). In both cases, the carbohydrate content of the aliquots estimated after a pattern curve containing from 15 to 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of glucose, processed simultaneously. The results are expressed as percentage of total soluble carbohydrates and reducers on the dry matter.

Statistical analysis. The experimental data was expressed using the software: Microsoft Excel 2003 and Statistix V 8.0. A variance analysis with a simple randomized design was carried out, considering as variation source the simple dates of a year, in both the leaves and roots of the two studied species. Tukey test was employed to determine the differences among the means. The standard error was calculated as $SE = SD/\sqrt{n}$, where SD is the standard deviation of the population (estimated) and n the size of the samples.

Results and discussion

Variation on the content of soluble carbohydrates in leaves of *Citrus sinensis* 'Valencia' and *Citrus reticulata* 'Dancy'

According to the results (figure 3) in April 2007, 10.16% of dry matter of leaves was constituted by soluble carbohydrates, out of which 1.49% corresponded to reducer carbohydrates, this agree to the blossom, and the initial fruit set of orange plants "Va-

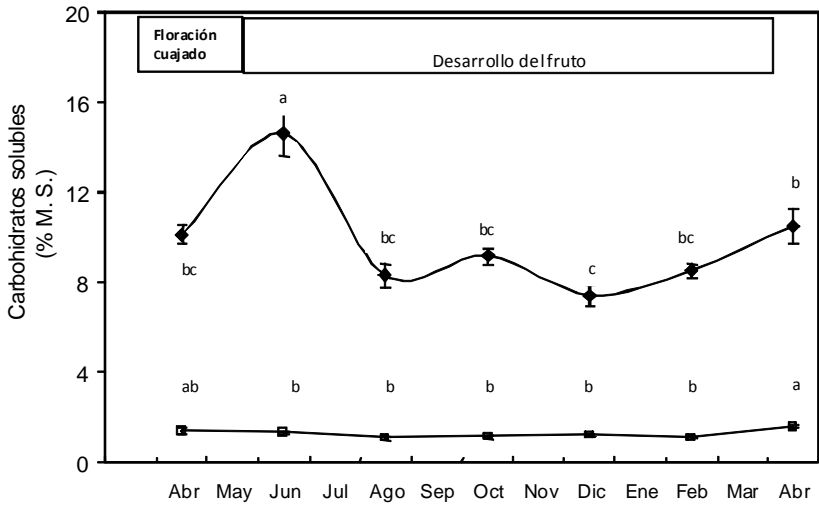


Figura 3. Contenido de carbohidratos solubles en hojas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ‘Valencia’ durante un ciclo anual de crecimiento reproductivo. Carbohidratos solubles totales (◆) y carbohidratos reductores (◻). Las barras representan el error estándar. Valores con letras distintas difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de media de Tukey ($P \leq 0,05$). Leyenda: %M.S.= porcentaje de materia seca.

Figure 3. Content of soluble carbohydrates in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ‘Valencia’ leaves during an annual reproductive growing cycle. Total soluble carbohydrates (◆) and reducer carbohydrates (◻). Bars represent the standar error. Values with different letters differ statistically with Tukey’s mean test ($P \leq 0.05$). Legend: %D.M.= percentage of dry matter.

de los frutos, en las plantas de naranja ‘Valencia’ el 10,16% de la materia seca de las hojas estaba constituida por carbohidratos solubles, de los cuales el 1,49% correspondieron a carbohidratos reductores. A partir de esta fecha el contenido de carbohidratos solubles totales registrados se incrementó hasta un valor máximo de 14,62% en el mes de junio, periodo de desarrollo inicial del fruto. A continuación, se registró un brusco descenso en el porcentaje de carbohidratos solubles totales

lencia”. After this date, the content of total soluble carbohydrates registered increased until a maximum value of 14.62% in June, which corresponds to the initial development of the fruit. Subsequently, a dramatic descend on the percentage of total soluble carbohydrates was registered, reaching in August an average of 8.32% which kept constant until October, date on which was observed a low intensity blossom. In December, the tenors of soluble carbohydrates

les, alcanzando en el mes de agosto un promedio de 8,32% que se mantuvo aproximadamente constante hasta octubre, fecha en la cual se observó una floración de baja intensidad. En el mes de diciembre los tenores de carbohidratos solubles alcanzaron un valor mínimo de 7,42%, y luego una nueva tendencia al incremento durante el mes de febrero del 2008, coincidiendo con la maduración del fruto. En abril del 2008, luego de la cosecha, el contenido de carbohidratos totales en las hojas alcanzó un promedio de 10,52%, ligeramente superior al determinado al inicio del estudio. Estas variaciones resultaron ser estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

Los resultados de la determinación de carbohidratos solubles totales en hojas de mandarina 'Dancy' (figura 4) mostraron ser muy similares a los de las naranjas, tanto en la concentración, como en el patrón de variación anual. En el caso de las mandarinas, al inicio del estudio los carbohidratos solubles totales representaron el 9,59% de la materia seca foliar, de los cuales solo el 1,52% fueron carbohidratos reductores. Estos valores se incrementaron significativamente ($P \leq 0,05$) a partir del mes de abril del 2007, alcanzando un máximo de 11,59%, durante el mes de junio, para luego descender hasta alcanzar concentraciones bajas y aproximadamente constantes entre los meses de julio a febrero del 2007, constituyendo los carbohidratos solubles totales una media del 8% de la materia seca foliar durante estos meses finales en el desarrollo y maduración del fruto. Luego de la cosecha se observó una ten-

reached a minimum value of 7.42%, later it increased again on February, 2008, coinciding with the ripening of fruits. On April 2008, after the harvest, the content of total carbohydrates in the leaves reached an average of 10.52%, slightly superior to the one determined at the beginning of the research. These variations resulted to be statistical significant ($P \leq 0.05$).

The determinant results of total soluble carbohydrates in tangerine leaves "Dancy" (figure 4) showed to be very similar to oranges, in both the concentration and the annual variation pattern. In the case of tangerines, at the beginning of the research the total soluble carbohydrates represented 9.59% of the foliar dry matter, out of which 1.52% were reducer carbohydrates. These values increased significantly ($P \leq 0.05$) after April 2007, reaching a maximum level of 11.59% during June, then it descended until reaching low and approximately constant concentrations from July to February, 2007; thus constituting the total soluble carbohydrates a mean of 8% of the foliar dry matter during these final months in the development and maturity of the fruit. After the harvest, was observed a tendency towards a percentage increment (7.89%) of these carbohydrates in the leaves. In relation to the concentration of reducer carbohydrates in leaves of 'Valencia' orange and 'Dancy' tangerine (figures 3 and 4), these generally constituted a very low percentage of total soluble solids, showing throughout a year an opposite behavior to those with lower values at the beginning of the reproductive

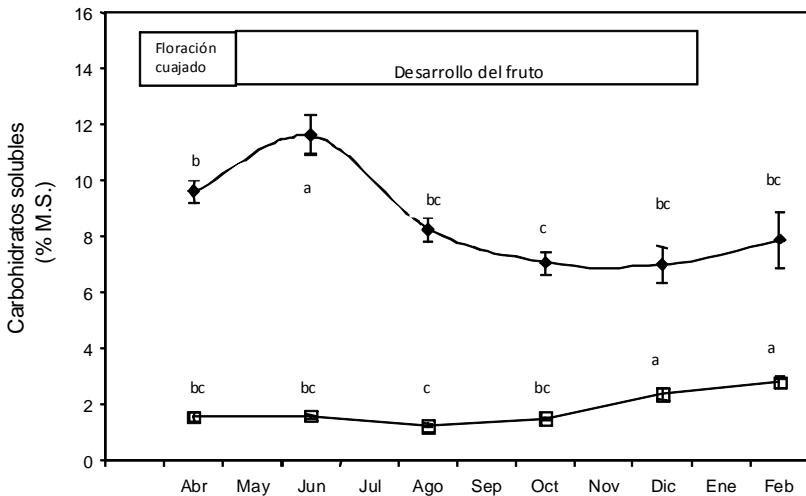


Figura 4. Contenido de carbohidratos solubles en hojas de plantas de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco) ‘Dancy’ durante un ciclo anual de crecimiento reproductivo. Carbohidratos solubles totales (◆) y carbohidratos reductores (□). Las barras representan el error estándar. Valores con letras distintas difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de media de Tukey ($P \leq 0,05$). Leyenda: %M.S.= porcentaje de materia seca.

Figure 4. Content of soluble carbohydrates in leaves of tangerine plants (*Citrus reticulata* Blanco) ‘Dancy’ during an annual reproductive growth cycle. Total soluble carbohydrates (◆) and reducer carbohydrates (□). Bars represent the standard error. Values with different letters differ statistically according to the Tukey’s mean test ($P \leq 0.05$). Legend: %D.M.= percentage of dry matter.

dencia al incremento porcentual (7,89%) de estos carbohidratos en las hojas.

En relación a la concentración de carbohidratos reductores en hojas de naranja Valencia y mandarina Dancy (figuras 3 y 4), en general estos constituyeron muy bajo porcentaje de los sólidos solubles totales, mostrando a lo largo del año un comportamiento opuesto a estos, con menores valores al inicio del crecimiento reproductivo

growth, and slightly superior to the maturity of the fruit.

In orange leaves Valencia, the maximum value of reducer carbohydrates registered during April 2007 (1.42%) and during the rest of the year were significantly lower ($P \leq 0.05$), fluctuating from 1.31% (June) to 1.08% (August) of the foliar dry matter. Similarly, the content of reducer carbohydrates in tangerine leaves Dancy (figure 4) showed

y levemente superior coincidiendo con la madurez del fruto. En las hojas de naranja Valencia el máximo valor de carbohidratos reductores se registró durante abril del 2007 (1,42%) y el resto del año fueron significativamente menores ($P \leq 0,05$), fluctuando entre el 1,31% (junio) y 1,08% (agosto) de la materia seca foliar. De forma similar, el contenido de carbohidratos reductores en las hojas de mandarina Dancy (figura 4) mostró cambios significativos durante el periodo de estudio ($P \leq 0,05$), con concentraciones bajas y aproximadamente constantes entre abril y octubre del 2007, representando entre un 1,5 y 1,2% de la materia seca foliar y a partir de esa fecha mostraron un incremento significativo con máximos durante el lapso diciembre del 2007 a febrero del 2008, fluctuando entre 2,36 y 2,78% de la materia seca foliar, respectivamente.

Tanto el contenido porcentual de carbohidratos solubles totales en las hojas de naranja 'Valencia' como en mandarina 'Dancy' se ajustaron a los señalados para otras variedades (Almeida, 2003; Iglesias *et al.*, 2002; Nebauer *et al.*, 2011). Bajo las condiciones ambientales del huerto (figuras 1 y 2), las plantas bajo estudio mostraron una intensa floración al inicio del ensayo, en abril 2007, probablemente inducida por la superación del estrés de sequía con las primeras lluvias y por un ligero aumento de las temperaturas máximas y mínimas (Leal, 2009). De acuerdo con los resultados (figuras 3 y 4), coincidiendo con esta floración se observó un incremento notable en el contenido de carbohidratos solubles, alcanzando valores máximos durante el cuajado y

significant changes during the research ($P \leq 0.05$), with low concentrations and approximately constant from April to October, 2007; representing from 1.5 to 1.2 of the foliar dry matter, and after that date showed a significant increment with maximum during December 2007 to February 2008, fluctuating from 2.36 to 2.78 of the foliar dry matter, respectively. The percentage content of total soluble carbohydrates in orange leaves "Valencia" and in tangerine leaves "Dancy" adjusted to those mentioned for other varieties (Almeida, 2003; Iglesias *et al.*, 2002; Nebauer *et al.*, 2011). Under the environmental conditions of the orchard (figures 1 and 2), the plants showed an intense blossom at the beginning of the research, April 2007, probably induced by overcoming the drought stress with the first rainfall and by a slight increment of the maximum and minimum temperatures (Leal, 2009).

According to the results (figures 3 and 4) and agreeing with this blossom, was observed an outstanding increment in the content of soluble carbohydrates, reaching maximum values during the fruit set and the initial growth of the fruit. This pattern of annual variation agrees to the information described by Almeida (2003) in orange plants Valencia var. Salustiana, but differs from the information provided by Mehouchi *et al.*, (1995) in *C. unshiu* (tangerine) leaves, characterized by a constant reduction in the content of soluble carbohydrates after the spring blossom. This apparent relation among flowering and fruit set, and the progressive increment in the content

crecimiento inicial del fruto y a continuación un periodo de marcada disminución vinculado a la maduración del fruto. Este patrón de variación anual coincide con el descrito por Almeida (2003) en plantas de naranja Valencia var. Salustiana pero difiere de la pauta determinada por Mehouchi *et al.*, (1995) en hojas de *C. unshiu* (mandarina) caracterizada por una disminución constante en el contenido de carbohidratos solubles a partir de la floración de primavera.

Esta aparente relación entre los eventos floración y cuajado y el progresivo incremento en el contenido de sólidos solubles presente en las hojas, puede estar vinculado con la incorporación de asimilados provenientes de las hojas nuevas de la inflorescencia a medida que alcanzan su madurez, lo cual ocurre en las plantas bajo estudio entre los 10 a 16 días (Perazzo *et al.*, 2007).

A pesar de considerarse el crecimiento inicial del fruto (Fase I) el de mayor demanda de hidratos de carbono, movilizados gracias al desarrollo del tejido vascular del pedicelo (Laskowski *et al.*, 2008; Laskowski, 2010), en las variedades estudiadas la Fase I de crecimiento del fruto coincidió con la mayor concentración de sólidos solubles en las hojas, mientras que la Fases II y III, de menor tasa de crecimiento, este contenido disminuyó significativamente. Esta circunstancia en la cual altos contenidos de carbohidratos solubles se vinculan a la fuerte demanda y bajos niveles a su disminución, concuerda con la tesis de la modulación de la tasa fotosintética por los sumideros (Goldschmidt y Koch, 1996; Iglesias *et al.*, 2002). Sin

of soluble solid present in the leaves, might be related to the incorporation of assimilates coming from the new inflorescence leaves at the time these reach their maturity, which happens in the plants under research within 10 to 16 days (Perazzo *et al.*, 2007).

In spite of considering the initial growth of the fruit (Phase I) the one with the highest demand of carbon hydrates moved thanks to the development of the pedicel vascular tissue (Laskowski *et al.*, 2008; Laskowski, 2010), in the studied varieties, Phase I of the fruit growth coinciding with the highest concentration of soluble solids in leaves, while in Phases II and III, with lower growing rate, this content reduced significantly.

This circumstance in which high contents of soluble carbohydrates are related to the high demand and low levels to their induction, agree with the thesis about capacity of sink demand to control photosynthesis rate (Goldschmidt and Koch, 1996; Iglesias *et al.*, 2002). However, the hypothesis on which the radical system becomes a particularly strong and unsaturated drainage in absence of fruits (Goldschmidt and Koch, 1996; Goldschmidt, 1999) complicates the possibility on determining how the demand of drainages controls the photosynthesis rates of citric under crop conditions. More recently, Nebauer *et al.* (2011) mention that changes in the division of soluble sugars but not in the sugar content *per se*, might work as a signal for regulating the photosynthesis. The lowest availability of soluble solids registered on the leaves from August

embargo, la hipótesis según la cual el sistema radical pasa a ser un sumidero particularmente fuerte e insaturable en ausencia de frutos (Goldschmidt y Koch, 1996; Goldschmidt, 1999) complica la posibilidad de determinar en qué medida la demanda de los sumideros controla las tasas de fotosíntesis de los cítricos bajo condiciones de cultivo. Más recientemente, Nebauer *et al.* (2011) señalan que cambios en la pauta de repartición de los azúcares solubles, pero no el contenido de azúcar per se, podrían servir de señal para la regulación de la fotosíntesis.

La menor disponibilidad de sólidos solubles registrada en las hojas durante los meses de agosto a octubre, puede estar vinculada al incremento del desarrollo vegetativo propio de la temporada lluviosa (Leal, 2009), determinando una menor intensidad en la segunda floración observada en las naranjas, así como su ausencia en el caso de las mandarinas. Aunque este efecto ha sido reiteradamente observado, no se ha determinado satisfactoriamente si la demanda de carbohidratos por los frutos y hojas en desarrollo incide significativamente en bajas tasas de floración (Verreynne y Lovatt, 2009; Martínez *et al.*, 2010, Monerri *et al.*, 2011).

Variación en el contenido de carbohidratos solubles en raíces de *Citrus sinensis* 'Valencia' y *Citrus reticulata* 'Dancy'

En las plantas de naranja 'Valencia', durante la floración y cuajado en abril del 2007, los carbohidratos solubles totales representaron el 3,62% de la materia seca de las raíces de los cuales el 0,85% constituyeron

to October, might be related to the increment of the characteristic vegetative development of the rainy season (Leal, 2009), determining a lower intensity in the second blossom observed in oranges, as well as its absence in tangerines. Even though this effect has been observed repeatedly, it has not yet been determined satisfactorily if the demand of carbohydrates per fruits and leaves under development has a significant effect on the low blossom rates (Verreynne and Lovatt, 2009; Martínez *et al.*, 2010, Monerri *et al.*, 2011).

Variation in the content of soluble carbohydrates in roots of *Citrus sinensis* 'Valencia' and *Citrus reticulata* 'Dancy'.

In orange plants Valencia, during flowering and fruit set on April 2007, the total soluble carbohydrates represented 3.62% of the dry matter of roots, out of which 0.85% constituted reducer carbohydrates (figure 5). During the research, these values showed variations in function of the analysis date, which is statistical significant in the reducer carbohydrates ($P \leq 0.05$) and according to the following: The register of total soluble carbohydrates in the roots showed a decrease from April to June, reaching an average content of 3.07%, agreeing to the initial development of the fruit. Subsequently, a tendency to the percentage increment was observed until October, when was evidenced a slight reduction, and increased again until December, reaching a maximum value of 4.40%. After that date, the soluble carbohydrate percentage in the roots suffered a marked descend, registering on February 2008 the

carbohidratos reductores (figura 5). Durante el periodo de estudio estos valores mostraron variaciones en función a la fecha de análisis, estadísticamente significativas solo en el caso de los carbohidratos reductores ($P \leq 0,05$) y de acuerdo a las siguientes pautas: El registro de los carbohidratos solubles totales en las raíces mostró un descenso entre abril y junio alcanzando un contenido promedio de 3,07%, coincidiendo con el desarrollo inicial del

minimum percentage value (2.26%). In relation to the reducer carbohydrates present in the roots (figure 5), the content showed to be lower and approximately more constant from April to October (0.80%), agreeing to the development of the fruit. After that date, was observed a drastic fall until reaching the lowest register (0.45%) in December, and showed a new recovery from January to February, 2008, representing an average value of 0.93%

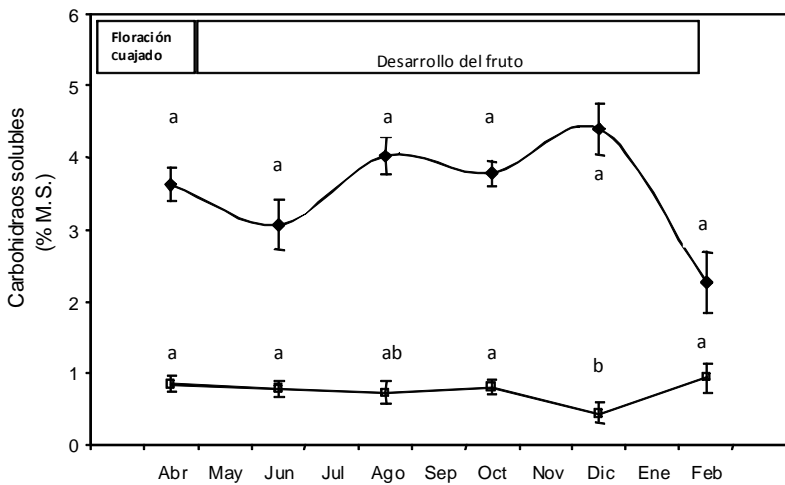


Figura 5. Contenido de carbohidratos solubles en raíces de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ‘Valencia’ durante un ciclo anual de crecimiento reproductivo. Carbohidratos solubles totales (◆) y carbohidratos reductores (◻). Las barras representan el error estándar. Valores con letras distintas difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de media de Tukey ($P \leq 0,05$). Leyenda: %M.S.= porcentaje de materia seca.

Figure 5. Content of soluble carbohydrates in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck “Valencia” roots, during an annual reproductive growth cycle. Total soluble carbohydrates (◆) and reducer carbohydrates (◻). Bars represent the standard error. Values with different letters differ statistically according to the Tukey’s mean test ($P \leq 0.05$). Legend: %D.M.= percentage of dry matter.

fruto. A continuación, se observó una tendencia al incremento porcentual hasta el mes de octubre cuando se observó una ligera disminución y se volvió a incrementar hasta el mes de diciembre con un valor máximo de 4,40%. A partir de esa fecha, el porcentaje de carbohidratos solubles en las raíces sufrió un marcado descenso, registrándose en el mes de febrero del 2008 el mínimo valor porcentual (2,26%). En relación a los carbohidratos reductores presente en las raíces (figura 5), su contenido mostró ser bajo y aproximadamente constante entre los meses de abril a octubre (0,80%), coincidiendo con el desarrollo del fruto. A partir de esta fecha, se observó una brusca caída hasta alcanzar el menor registro (0,45%) en el mes de diciembre y mostró una nueva recuperación durante los meses de enero a febrero del 2008, representando a la fecha un valor promedio de 0,93% de la materia seca radical. Estas variaciones fueron estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

En las plantas de mandarina 'Dancy' durante la floración y el cuajado inicial, en abril del 2007, los carbohidratos solubles totales en las raíces representaron el 3,3% de la materia seca, con solo 1,12% de carbohidratos reductores (figura 6). A continuación, se observaron cambios estadísticamente significativos ($P \leq 0,05$) en el contenido de carbohidratos solubles presentes en las raíces, relacionados con la fecha de muestreo, de acuerdo con el siguiente comportamiento: durante el desarrollo del fruto, entre los meses de abril y octubre del 2007, el contenido de los carbohidratos solubles totales en las

of the radical dry matter. These variations were statistical significant ($P \leq 0,05$).

In Tangerine plants "Dancy" during the blossom and the initial fruit set on April 2007, the total soluble carbohydrates in the roots represented 3.3% of the dry matter, with 1.12% of the reducer carbohydrates (figure 6). Were also observed significant statistical changes ($P \leq 0,05$) in the content of soluble carbohydrates present in the roots, related to the sampling dates according to the following behavior: during the development of the fruit, in April and October 2007, the content of total soluble carbohydrates in the roots showed a continuous descend representing from 3.29% to 0.77% of the radical dry matter, minimum content registered. Later, a significant recovery of the soluble carbohydrates tenors was observed, until reaching a maxima in December (4.85%), coinciding with the ripening of the fruit, and decreased again on February 2008, with a percentage content of 1.68% after the crop. In relation to the reducer carbohydrates (figure 6), these showed significant variations in the radical content during the research, with strong falls from April to October 2007, with an initial percentage of 1.12% until reaching its minimum of 0.49% of dry matter. After that date, a significant recovery percentage was observed, registering on December 2007 an average content of 1.07%, which tended to increased on February 2008, after the crop, when was registered 1.13% of reducer carbohydrates. According to the results, the percentage content of to-

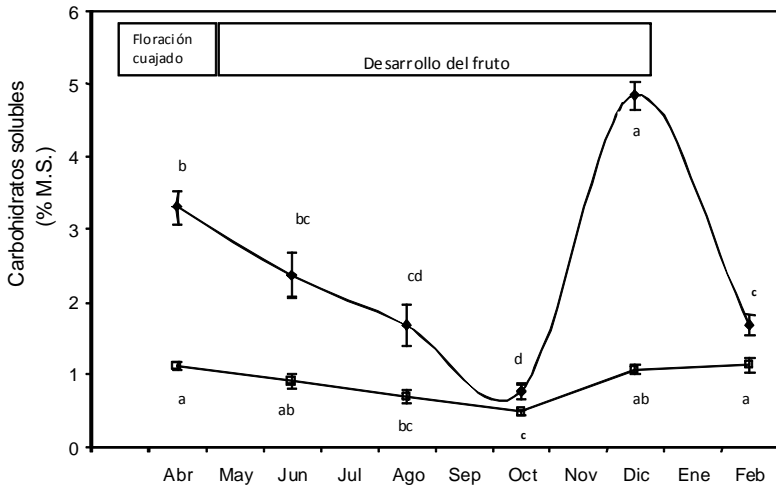


Figura 6. Contenido de carbohidratos solubles en raíces de plantas de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco) ‘Dancy’ durante un ciclo anual de crecimiento reproductivo. Carbohidratos solubles totales (◆) y Carbohidratos reductores (◻). Las barras representan el error estándar. Valores con letras distintas difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de media de Tukey ($P \leq 0,05$). Leyenda: %M.S.= porcentaje de materia seca.

Figure 6. Content of soluble carbohydrates in roots of tangerine plants (*Citrus reticulata* Blanco) ‘Dancy’ during an annual reproductive growth cycle. Total soluble carbohydrates (◆) and reducer carbohydrates (◻). Bars represent the standard error. Values with different letters differ statistically according to the Tukey’s mean test ($P \leq 0.05$). Legend: %D.M.= percentage of dry matter.

raíces mostró un descenso continuo, pasando de representar el 3,29% al 0,77% de la materia seca radical, contenido mínimo registrado. Luego se observó una recuperación significativa de los tenores de carbohidratos solubles hasta alcanzar un máximo en el mes de diciembre (4,85%), coincidiendo con la maduración del fruto, y volvió a disminuir en el mes de febrero del 2008, con un contenido porcentual del 1,68% luego de la cosecha.

tal soluble carbohydrates in the orange roots Valencia and tangerine Dancy (figures 5 and 6) were similar, but lower than those reported in the leaves and roots of other orange varieties (Almeida, 2003; Monerri *et al.*, 2011), particularly in reducer carbohydrates, which evidences a radical growth with energetic limitations and limited reservoir capacity.

The tendency observed of opposite variation patterns among the roots and

En relación a los carbohidratos reductores (figura 6), estos mostraron variaciones significativas en el contenido radical durante el estudio, con fuerte caída durante los meses de abril a octubre del 2007, pasando de un porcentaje de 1,12% hasta alcanzar un mínimo de 0,49% de la materia seca. A partir de esa fecha se observó una recuperación porcentual significativa, registrándose en el mes de diciembre del 2007 un contenido promedio del 1,07% que tendió a incrementarse en el mes de febrero del 2008, luego de la cosecha, cuando se registró un 1,13% de carbohidratos reductores.

De acuerdo con los resultados, el contenido porcentual de carbohidratos solubles totales en las raíces de naranja 'Valencia' y mandarina 'Dancy' (figuras 5 y 6) fueron similares entre sí, inferiores a los determinados para las hojas y a los reportados en raíces de otras variedades de naranja (Almeida, 2003; Monerri *et al.*, 2011), particularmente en carbohidratos reductores, lo cual evidencia un crecimiento radical con limitaciones energéticas y escasa capacidad de reserva.

La tendencia observada de pautas de variación opuestas entre las raíces y las hojas probablemente refleja condiciones de gran competencia por los fotoasimilados, principalmente dirigidos hacia los frutos en desarrollo, en detrimento de las raíces. Esta situación es similar a la observada en zonas templadas donde las reservas de carbohidratos adquiridas bajo el estímulo de las bajas temperaturas se consumen totalmente durante la brotación de primavera lo cual determina que el crecimiento del fruto dependa de la fotosíntesis diaria

leaves probably shows competence conditions by the photo-assimilates, mainly committed towards the fruits in the development process, and in detriment of the roots. This situation is similar to the one observed in temperate areas, where the reservoirs of carbohydrates acquired with low temperatures are totally consumed during the spring blossom, which determines that fruit growth depends on the daily photosynthesis (Goldschmidt 1999; Monerri *et al.*, 2011).

In the current research, it is supposed that the overlapping of the vegetative and reproductive flows characteristic of citric plants under tropical conditions (Perazzo *et al.* 2007; Leal, 2009), limit even more the recovery possibilities of carbon hydrate levels in roots as a possible reservoir organ. It must also be considered that the vegetative growth could have been favored by the biggest availability of rainfall water and the high temperatures registered in the orchard from April to December 2007 (figures 1 and 2), as mentioned by Perazzo *et al.* (2007) in sweet orange plants. On this matter, the recovery of the soluble carbohydrate levels in tangerine roots during November, might be explained by a reduction of the demand of the reproductive growth, typical of citric fruits about to reach maturity (Laskowski, 2010), while the fall registered is related to the metabolism before a new blossom, high energetic consumption activity that might justify the favorable difference of the reducer carbohydrates towards the non reducers, observed from December to February (figures 4 and 6).

The annual mobilization models

(Goldschmidt 1999; Monerri *et al.*, 2011). En nuestro estudio es de suponer que la superposición de flujos de crecimiento vegetativo y reproductivo, característico de plantas de cítrico bajo condiciones tropicales (Perazzo *et al.* 2007; Leal, 2009), limitan aún más las posibilidades de una recuperación de los niveles de hidratos de carbono en las raíces como posible órgano de reserva. Debe además considerarse en este punto que el crecimiento vegetativo pudo favorecerse por la mayor disponibilidad de agua de lluvia y por las altas temperaturas registradas en el huerto durante los meses de abril a diciembre del 2007 (figuras 1 y 2), tal como lo señalan Perazzo *et al.* (2007) en plantas de naranja dulce.

En este sentido, la recuperación de los niveles de carbohidratos solubles en las raíces de mandarina durante el mes de Noviembre puede explicarse por una disminución de la demanda del crecimiento reproductivo, típico de los frutos cítricos al alcanzar la madurez (Laskowski, 2010), mientras que la caída registrada a continuación se relaciona con el metabolismo previo a una nueva brotación, actividad de alto consumo energético que puede justificar la diferencia favorable a los carbohidratos reductores frente a los no reductores observada entre los meses de Diciembre y Febrero (figuras 4 y 6).

Los modelos de movilización anual de los carbohidratos solubles de las hojas y raíces en plantas cítricas en zonas templadas establecen, en general, un rápido consumo de las reservas de invierno durante la floración de primavera y bajos valores durante el desarrollo del fruto (Goldschmidt y

of soluble carbohydrates of leaves and roots in citric plants in template areas, generally establish a fast consumption of the winter reservoirs during spring blossom and low values during the fruit development (Goldschmidt and Koch, 1996; Ruiz *et al.*, 2001; Monerri *et al.*, 2011).

The results of this research extend the observations to the tropical areas, showing that the variation in the content of soluble carbohydrates in leaves and roots of Valencia orange and Dancy tangerine follow a pattern that might be related to the processes of flowering, fruit set and growing of the fruit. It is also proved that if there is accumulation of carbohydrates in the roots, it is limited to periods with lower demand of the fruit growth.

These types of researches might contribute to comprehend the nature of the photosynthesis control mechanisms, essential to improve the productivity of citric in tropical environments, as part as the new researches that propose the regulation of the photosynthesis due to changes that occur in the division of soluble sugar during the productive cycle in citric (Nebauer *et al.*, 2011).

Conclusions

Orange plants “Valencia” and tangerine plants “Dancy” under weather conditions in Lara state, Venezuela, presented similar annual variation patterns in the content of soluble carbohydrates in leaves and roots, related to the processes of flowering, fruit set and fruit development. During the initial phase of the reproductive growth, the content

Koch, 1996; Ruiz *et al.*, 2001; Monerri *et al.*, 2011). Los resultados de este estudio amplían estas observaciones a las zonas tropicales, demostrando que la variación en el contenido de carbohidratos solubles, en hojas y raíces de plantas de naranja 'Valencia' y mandarina 'Dancy', siguen un patrón que puede relacionarse con los procesos de floración, cuajado y crecimiento del fruto. Se demuestra además que, de haber acumulación de carbohidratos en las raíces, se restringe a los periodos de menor demanda por parte del crecimiento del fruto.

A la luz de nuevas investigaciones que proponen la regulación de la fotosíntesis debido a cambios que ocurren en la repartición de los azúcares solubles durante el ciclo productivo en los cítricos (Nebauer *et al.*, 2011), estudios como el presente pueden contribuir a la comprensión de la naturaleza de los mecanismos de control de la fotosíntesis, indispensables para mejorar la productividad de los cítricos en ambientes tropicales.

Conclusiones

Las plantas de naranja 'Valencia' y de mandarina 'Dancy' creciendo bajo condiciones climáticas del estado Lara, Venezuela, presentaron pautas similares de variación anual en el contenido de carbohidratos solubles en hojas y raíces, vinculadas a los procesos de floración, cuajado y desarrollo del fruto. Durante la fase inicial del crecimiento reproductivo el contenido de carbohidratos solubles en las hojas se incrementó, mientras que ocurrió una drástica disminución de las reservas en las raíces. Luego del crecimiento

de soluble carbohidratos in the leaves increased, while a drastic reduction of the root's reservoir was observed. After the exponential growth of the fruit, the content of soluble carbohydrates in the leaves and roots was low and only recovered during the months of fruit ripening.

Acknowledgment

The authors thank CDCHT-UCLA, by financing the researches which results are presented on this investigation. The authors also thank the Chemistry and Soil Department, Agronomy Faculty, UCLA, specially Gosmir Torres and Junior Medina, by their help provided in the laboratory works.

End of english version

exponencial del fruto el contenido de carbohidratos solubles, tanto de las hojas como de las raíces, fueron bajos y solo se recuperaron durante los meses de maduración del fruto.

Agradecimientos

Al CDCHT-UCLA, ente financiador de los proyectos de investigación cuyos resultados se presentan en este trabajo. Al Departamento de Química y Suelo del Decanato de Agronomía, UCLA, en especial a la Lic. Gosmir Torres y al Sr. Junior Medina, por la ayuda y confianza recibida mientras trabajamos en el laboratorio a su cargo.

Literatura citada

- Almeida, A.F. 2003. Acumulación y movilización de carbohidratos durante el cuajado del fruto en el naranjo dulce Salustiana (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Tesis Doctoral. Departamento de Biología Vegetal. Universidad Politécnica de Valencia. España. 94 p.
- García-Luis, A., F. Fornés, A. Sanz y J. L. Guardiola. 1995. Leaf carbohydrates and flower formation in *Citrus*. *J Am Soc Hortic Sci* 120:222-227
- Goldschmidt, E. 1999. Carbohydrate supply as a critical factor for *Citrus* fruit development and productivity. *HortScience* 34: 1020-1024
- Goldschmidt, E., N. Aschkenazi, N. Herzano, A. Schaffer y S. Monselise. 1985. A role for carbohydrates levels in the control of flowering in *Citrus*. *Sci Hortic-Amsterdam* 26:159-166
- Goldschmidt, E. y K. Koch. 1996. *Citrus*. p. 797-823. En: Zamski, E. y A. Schaffer (Eds.) *Photoassimilate distribution in plant and crops*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Guardiola, J.L y A. García-Luis. 2000. Increasing fruit size in *Citrus*. Thinning and stimulation of fruit growth. *Plant Growth Regul* 31: 121-132.
- Iglesias D.J., I. Lliso, F.R. Tadeo y M. Talón. 2002. Regulation of photosynthesis through source:sink imbalance in *citrus* is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiol Plantarum* 116:563-572.
- Laskowski, L. 2010. Determinación de carbohidratos solubles en pedicelo y fruto de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck durante el crecimiento inicial. *Interciencia* 35(5): 388-392.
- Laskowski, L., C. Monerri, A. García-Luis y J.L. Guardiola. 2008. Vascularización del pedicelo y crecimiento del fruto de *Citrus sinensis* var. Salustiana y su relación con el contenido de ácido indolacético. *BioAgro* 20(1): 11-20
- Leal, F. 2009. Ecofisiología de los cítricos en los trópicos. Memorias V Taller Regional de Bioclimatología y Manejo de Producción de Cítricos. Valencia, Venezuela, p.29
- McCready, R., J. Guggolz, V. Silviera y H. Owens. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to Peas. *Anal Chem* 22(9):1156-1158.
- Martínez-Fuentes A., C. Mesejo, C. Reig y M. Agustí. 2010. Timing of the inhibitory effect of fruit on return bloom of Valencia sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *J Sci Food Agr* 90(11): 1936-1943.
- Mataa, M. y S. Tominaga. 1996. Reproductive-vegetative shoot growth interactions and relationship to non-structural carbohydrates in immature ponkan mandarin. *J Hort Sci Biotech* 73(2): 189-194
- Mehouachi, J., D. Serna, S. Zaragoza, M. Agustí, M. Talon y E. Primo-Millo. 1995. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Sci*. 107:189-197.
- Monerri, C., A. Fortunato-Almeida, R.V. Molina, S.G. Nebauer, A. García-Luis y J.L. Guardiola. 2011. Relation of carbohydrate reserves with the forthcoming crop, flower formation and photosynthetic rate, in the alternate bearing 'Salustiana' sweet orange (*Citrus sinensis* L.). *Sci Hortic-Amsterdam* 129 (1): 71-78.
- Nebauer, S.G., B. Renau-Morata, J.L. Guardiola, R.V. Molina y J. Pereira. 2011. Photosynthesis down-regulation precedes carbohydrate accumulation under sink limitation in *Citrus*. *Tree Physiol*. 31 (2): 169-177.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *J Bio Chem* 153:375-380.
- Perazzo, S., L. Diaz, J. Aular y J. Pares. 2007. Estudio de las etapas fenológicas del

- naranja "Valencia" sobre tres (3) portainjertos en un huerto ubicado en el municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela. Proceedings of the ISTH 51: 77-82
- Rivas, F., M. Agusti y A. Gravina. 2006. Girdling increases carbohydrates availability and fruit-set in *Citrus* cultivars irrespective of parthenocarpic ability. *J Hortic Sci Biotech* 81(2): 289-295.
- Ruiz, R., A. García-Luis, C. Monerri y J.L. Guardiola. 2001. Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in *Citrus*. *Ann Bot-London* 87:805-812.
- Sanz, A., C. Monerri, J. Gonzalez-Ferrer y J.L. Guardiola. 1987. Changes in carbohydrates and mineral elements in *Citrus* leaves during flowering and fruit set. *Physiol Plantarum* 69: 93-98.
- Spiegel-Roy, P. y E. Goldschmidt. 1996. *Biology of Citrus*. Univ. Press, Cambridge, UK. 230 p.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 195:19-23
- Verreynne, F. y K. Lovatt. 2009. The effect of crop load on budbreak influences return bloom in alternate bearing 'Pixie' mandarin. *J Amer Soc Hort Sci* 134: 299-307.